Aus dem Institut für gerichtliche und soziale Medizin.
(Direktor: Professor Dr. K. Walcher).

Die Vorproben mittels Benzidin und Leukomalachitgrün und ihre Brauchbarkeit für die gerichtliche Medizin

Inaugural-Dissertation

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

zur

Erlangung der Doktorwürde

vorgelegt von

Heinz Harttmann
aus Chemnitz

1939

Buchdruckerei Richard Mayr, Würzburg.

Gedruckt mit Genehmigung der Med. Fakultät der Universität Würzburg.

Referent:
Professor Dr. Kurt Walcher.

MEINEN LIEBEN ELTERN!

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549803_0150

Wenn es sich darum handelt, an einem Gegenstand den Nachweis zu erbringen, daß er mit Blut in Berührung gekommen ist, so wird man häufig gezwungen sein, ziemlich große Flächen abzusuchen (Kleidungsstücke, Fußböden usw.). Wollte man nun jeden Fleck, der möglicherweise durch Blutspritzer entstanden sein könnte, sofort mit jenen Methoden angehen, die, jeden Irrtum ausschließend, die Anwesenheit von Blut, insbesondere Menschenblut, unbedingt beweisen, so sind die Schwierigkeiten, die in der Umständlichkeit der technischen Durchführung begründet liegen, leicht einzusehen. Man wird daher dankbar sein, wenn man ein Mittel zur Hand hat, das bei einfachster Anwendung wenigstens das Vorhandensein von Blut mutmaßen läßt oder — was mitunter ebenfalls wertvoll sein kann — mit einer gewissen Sicherheit auszuschließen gestattet. Darauf wird man sich so lange beschränken müssen, als der ideale Blutnachweis, der zugleich den menschlichen Ursprung im selben Untersuchungsgang sichert, noch aussteht.

Bislang begnügt man sich also damit, mittels einer solchen Vorprobe zunächst die Anwesenheit von Blutfarbstoff wahrscheinlich machen zu können. An diese Feststellung schließen sich die eingehenderen Untersuchungen.

Aus diesem Grunde muß die vorangegangene Vorprobe, besonders wenn es sich um knappes Material handelt, eine wichtige Forderung erfüllen: Sie darf das Objekt durch die mit ihr verknüpften physikalischen oder chemischen Vorgänge für die nachfolgenden Untersuchungen nicht unbrauchbar machen. Über diese Überlegungen hinaus gibt einen Maßstab für ihre Verwendbarkeit eine Aufstellung der für eine Vorprobe wünschenswerten Eigenschaften:

1. Spezifität für Blut.

2. Genügend große Empfindlichkeit, um mit möglichst wenig Material auszukommen.

3. Größtmögliche Einfachheit der Ausführung, wozu vom wirtschaftlichen Standpunkt aus noch Haltbarkeit des Reagens zu fügen wäre.

Unter Berücksichtigung dieser Gesichtspunkte habe ich mich der Aufgabe unterzogen, zwei Vorproben, die Benzidin- und die Leuko-

malachitgrünprobe vergleichend zu untersuchen, insbesondere die Angaben, die sich in der Literatur über beide finden, nachzuprüfen.

Oskar und Rudolf Adler stellten 1904 eine Reihe von Versuchen an, die zum Gegenstand das Verhalten der aromatischen Amidokörper, Phenole, aromatischen Säuren, der Diphenyl-Naphthalingruppe und von Reduktionsprodukten gewisser Teerfarbstoffe (Leukobasen) gegenüber Blut hatten. Von diesen Verbindungen weiß man, daß sie imstande sind, durch Oxydation eine Farbenreaktion zu erzeugen. Diese Eigenschaft macht man sich für den Nachweis von Blut zunutze, indem man sich dessen physiologischer Bestimmung als Sauerstoffüberträger bedient. Als Sauerstoffquelle wird in der Regel Wasserstoffsuperoxyd benützt. Es erwiesen sich neben dem di-p-diamino-diphenyl, dem Benzidin, als besonders geeignet einige Leukobasen der Triphenylmethanreihe, so die Gruppe des Malachitgrüns und hier insbesondere das Leukomalachitgrün. Merkwürdigerweise befaßte man sich seit O. und R. Adler kaum wieder mit diesem von ihnen sehr gerühmten Leukomalachit und beschränkte sich in der Folge aus der Zahl der genannten Verbindungen fast ausschließlich auf das Benzidin.

Ich will daher zunächst auf die Benzidinprobe und ihre Modifikationen, soweit sie für die gerichtsärztliche Praxis angegeben worden sind, eingehen.

Die Benzidinprobe.

Es sind hier zwei große Gruppen zu unterscheiden, entsprechend dem für das Benzidin verwendeten Lösungsmittel:

1. Lösung in Alkohol absolut.
2. Lösung in Eisessig.

Innerhalb dieser Einteilung fanden nur solche Modifikationen Berücksichtigung, die grundsätzliche Abweichungen erkennen ließen. Im übrigen unterscheiden sich die zahlreichen diesbezüglichen Angaben der Literatur zum größten Teil nur unwesentlich durch kleine quantitative Variationen oder durch die angewandte Technik.

1. Die alkoholischen Lösungen. (I—II).

O. und R. Adler rieten, eine in der Hitze konzentrierte und nach dem Abkühlen filtrierte alkoholische Benzidinlösung der Untersuchungsflüssigkeit hinzuzufügen, welche zuvor mit etwas Wasserstoffsuperoxyd sowie einigen Tropfen Essigsäure versetzt worden war. Die Anwesenheit von Blut kommt durch „prachtvolle Grünfärbung" zum Ausdruck. Die von Ascarelli (I) stammende genauere Vorschrift, die die Grundlage für die meisten späteren Arbeiten darstellt, lautet:

„2 ccm einer frischgesättigten Lösung von Benzidin in absolutem Alkohol werden mit 2 ccm 3%igem Wasserstoffsuperoxyd und 1—2 Tropfen Eisessig gemischt".

Je nach der Menge des Blutfarbstoffes tritt eine grünliche bis dunkelblaue Färbung ein.

Mit Hilfe verschiedener Kunstgriffe versuchte man die Anwendung dieses Reagens zu vereinfachen. So gibt Leers ein Benzidinreagenspapier an, das er erhält, indem er Fließpapier in mehrfacher Schicht mit gesättigter alkoholischer Benzidinlösung und einem Tropfen Eisessig tränkt. Damit wird die verdächtige Stelle betupft. Bringt man jetzt auf diesen Fleck des Papiers einen Tropfen Wasserstoffsuperoxyd, so verrät sich die Anwesenheit von Blut durch Dunkelblaufärbung. Ziemke geht ähnlich vor, wäscht aber zuvor das Filtrierpapier mit dünner Säurelösung, um Eisenspuren zu entfernen, die er für Irrtümer verantwortlich macht.

Überhaupt stellt das Filtrierpapier, so sehr es die Durchführung der Probe vereinfacht, eine wichtige Fehlerquelle der Benzidinprobe dar. Den Vorteil, mit der Substanz des Untersuchungsmaterials arbeiten und die Herstellung einer Lösung oder Aufschwemmung umgehen zu können, muß man mit der Möglichkeit einer Spontanfärbung ohne Blut erkaufen, die durch Bestandteile des Filtrierpapiers, auch des besten, nur zu oft hervorgerufen wird.

Die Kapillarmethode Hausers brachte zuerst Ascarelli für die Benzidinprobe zur Anwendung. Merkel bediente sich ihrer bei seinen umfangreichen Untersuchungen, indem er erst das spezifisch leichtere alkoholische Reagens aufsaugte, dann unter Zwischenschaltung einer kleinen Luftblase die Untersuchungsflüssigkeit, worauf Verschluß des Röhrchens mit Plastellin erfolgte. Bei positivem Ausfall läßt sich an der Berührungsstelle der beiden Flüssigkeiten ein blauer Ring erkennen. Die Nachteile des Verfahrens ergeben sich aus der unerläßlichen Notwendigkeit, jedesmal einen Extrakt des zu prüfenden Materials herstellen zu müssen. Merkel verwendete zu diesem Zweck eine 0,9%ige Kochsalzlösung, oder, wenn diese nicht zum Ziele führte, schwach alkalische Lösungen.

Eine besondere Verfeinerung der Reaktion versprach sich Schwarz (II) von folgender Zusammensetzung: Unter vorsichtigem Erwärmen wird eine 2%ige Benzidinlösung in absolutem Alkohol hergestellt. Auf 50 ccm der Lösung kommt 1 ccm Eisessig. Vor Gebrauch ist der Lösung auf 1 ccm 1 Tropfen Chinolin zuzusetzen. Schließlich läßt man an der Wand des Reagensglases vorsichtig einige Tropfen 3%iges Wasserstoffsuperoxyd herablaufen und sieht nun an der Grenzfläche bei Vorhandensein von Blut einen deutlichen blaugrünen Ring erscheinen.

Schwarz berichtet, daß er mit dieser Modifikation Blutverdünnungen als solche erkennen konnte, die das 10fache der sonst mit der Benzidinprobe nachweisbaren Konzentrationen betrugen.

2. Die Benzidin-Eisessiglösungen. (III—VI).

Häufiger als die alkoholische Lösung ist die Sättigung des Benzidins in Eisessig. Die Angaben lauten im Durchschnitt dahingehend, daß eine Messerspitze Benzidin in 2—3 ccm Eisessig gelöst wird, worauf 3%iges Wasserstoffsuperoxyd je nach dem Autor in verschiedener Menge hinzuzubringen ist. Ich benutzte für meine Versuche in dieser Richtung die Vorschrift Ziemkes (III), der zu 10 Tropfen der Benzidin-Eisessiglösung 30 Tropfen der 3%igen Wasserstoffsuperoxydlösung fügt.

Hofmann-Haberda versetzt die verdächtige Spur mit der gesättigten Lösung von Benzidin in Eisessig und gibt außer einigen Tropfen Wasserstoffsuperoxyd eine gleiche Menge Pyridin dazu (IV).

Auch hier wurde die Anfertigung eines Reagenspapiers versucht. Einhorn tränkte zu diesem Zwecke Filtrierpapierstreifen mit der Benzidin-Eisessiglösung und tauchte sie nach dem Trocknen in die zu untersuchende Flüssigkeit. Eine nach Hinzufügen einiger Tropfen Wasserstoffsuperoxyd innerhalb einer Minute auftretende Farbreaktion ist als positiver Ausfall zu bewerten. Zu dieser zeitlichen Begrenzung sieht er sich dadurch gezwungen, daß auch hier bei Fehlen von Blut schon die Bestandteile des Reagenspapiers mitunter eine intensive Blaufärbung einzelner Stellen veranlaßten, sobald die Wasserstoffsuperoxydlösung hinzutrat. Mit dieser Erscheinung ist umso sicherer zu rechnen, je länger man abwartet. Aus dieser Beobachtung schlägt Walter vor, verdächtige Spuren mit 3%igem Wasserstoffsuperoxyd zu befeuchten, mit einem Bausch entfetteter Watte abzureiben, und diesem die Eisessig-Benzidinlösung und einige Tropfen Wasserstoffsuperoxyd aufzutropfen. Die Blau- oder Grünfärbung der Watte soll bei Anwesenheit von Blut fast augenblicklich eintreten. Allerdings läuft man bei diesem Verfahren Gefahr, durch das direkte Aufbringen von Wasserstoffsuperoxyd auf die Spur diese für weitere Untersuchungen unbrauchbar zu machen.

Einen Nachteil, der der Verwendung von Wasserstoffsuperoxyd anhaftet und der darin besteht, daß es jedesmal frisch aus Perhydrol hergestellt werden muß, sucht Walter durch Einführung einer anderen gleichfalls Sauerstoff abspaltenden Verbindung zu beseitigen. Er hielt Natriumperborat für besonders geeignet und schreibt für die Bereitung des Reagens Lösen von 0,1 Benzidin und 0,1 Natriumperborat in 10 ccm Eisessig vor. (V).

Auf dem gleichen Prinzip beruhen die von der Firma Merck (VI) hergestellten Benzidintabletten, die neben 0,05 g Benzidin 0,20 g Barium peroxydat. enthalten. Man läßt entweder eine Tablette in 5 ccm Aqua dest. zerfallen und gibt dann 5 ccm Eisessig zu oder man verwendet 10 ccm 50%ige Essigsäure, bringt aber zuvor zweckmäßig durch einen Tropfen Wasser die Tablette zum Zerfließen. Die überstehende Lösung bzw. das Filtrat stellt das fertige Reagens dar, welches jedoch nur etwa eine halbe Stunde verwendbar ist.

Es wird behauptet, daß die Empfindlichkeit des Benzidins nach Art und Dauer der Aufbewahrung und der Herstellerfirma beträchlich schwankt. Ziemke bekam bei nicht vorschriftsmäßig in brauner Flasche und lichtgeschützt aufbewahrtem Benzidin einen bräunlichen Farbton und bei Alkoholzusatz Blaufärbung. Weiter ist auch das jedesmalige frische Ansetzen des Reagens von Bedeutung, da sonst bereits der Wasserstoffsuperoxyd- und Eisessigzusatz zu grüner Färbung Anlaß gibt, die mit einem positiven Ausfall verwechselt werden könnte. Dazu ist zu bemerken, daß das Eintreten einer grünen oder blauen Farbenreaktion eine Frage der Konzentration der Blutlösung zu sein pflegt, indem bei geringem Blutgehalt die Farbe mehr nach der grünen Seite neigt.

Um Vergleiche zu ermöglichen, hat man Versuche mit verschiedenen Blutverdünnungen angestellt. Die Ergebnisse schwanken erheblich. Infolge Alter und ungeeigneter Aufbewahrung minderwertige Benzidinpräparate ließen Blut erst bei Verdünnungen von einigen Tausend erkennen. Einhorns Reagenspapier ist nur für Konzentrationen bis 1 : 2000 empfindlich. Die meisten übrigen Angaben bewegen sich zwischen 1 : 100 000 und 1 : 300 000, bei 1 : 500 000 sind nach ihnen keine zuverlässigen Schlüsse möglich. Nur Schwarz hat mit seiner Modifikation noch einwandfrei positive Ausfälle bei 1 : 2000 000.

Es ist nunmehr die Frage aufzuwerfen, ob die Benzidinprobe und ihre Modifikationen für Blut spezifisch sind. O. und R. Adler schlossen bereits aus dem Wesen der Reaktion, daß davon nicht die Rede sein kann, handelt es sich doch lediglich um eine Übertragung des von dem Wasserstoffsuperoxyd stammenden Sauerstoffs durch den Blutfarbstoff auf das oxydationsfähige Benzidin, mithin um eine Oxydasenreaktion. Es leuchtet ein, daß auch andere gleichgeartete Substanzen eine entsprechende Reaktion hervorrufen. Sie faßt man unter der Bezeichnung „Fremdoxydasen" zusammen. Dazu gehören oxydierende Fermente (O. und R. Adler), insbesondere pflanzliche Oxydasen (Mc Weeney). Streng von diesen zu trennen sind die Täuschungsreaktionen, zu denen blutfreie Substanzen Anlaß geben, die mit dem Reagens der Blutreaktion ähnelnde Farbenerscheinungen erzeugen, meist allerdings schon bei Fehlen des Sauerstoffspenders.

Schließlich ist noch jenen Einflüssen nachzugehen, die den Nachweis von Blut erschweren oder gar zunichte machen.

Daß die Verhältnisse, besonders was die Fremdoxydasen anlangt, durchaus nicht eindeutig liegen, geht aus der großen Zahl einander widersprechender Darlegungen im Schrifttum hervor. So sagen, um ein Beispiel zu wählen, von ungekochter Milch 4 Autoren aus, daß sie eine positive Benzidinreaktion gibt, während eine gleiche Zahl dies verneint. Ganz allgemein behauptete Ascarelli von der Benzidinprobe, daß ihr positiver Ausfall für die Anwesenheit von Blut beweisend sei, während als anderes Extrem Podlinski sie auf Grund ihrer zahlreichen Fehlerquellen geradezu für „belanglos" erklärt.

Im Folgenden werde ich unter Zugrundelegung meiner eigenen Versuche zu den zahlreichen Angaben Stellung nehmen, die seit Bestehen der Benzidinprobe im Schrifttum Erwähnung gefunden haben. Ich prüfte die in Frage kommenden Substanzen jedesmal zunächst auf etwaiges Auftreten einer Fremdoxydasen- oder Täuschungsreaktion, hierauf bei Zusatz einer Lösung 1 : 1000 von defibriniertem, 6—8 Wochen altem Ochsenblut, um auf diese Weise störenden Einflüssen auf die Spur zu kommen. Die eingangs erläuterten Modifikationen sind in den Tabellen mit den Ziffern I bis VI bezeichnet.

Von den anorganischen Stoffen sind wohl nur die Metalle und ihre Oxyde von größerer praktischer Bedeutung, da sie häufig die Unterlage für eine Blutspur darstellen. Verschiedentlich wird behauptet, daß Metalloxyde, insbesondere die des Eisens (Rost) und Kupfers das ihnen anhaftende Blut derart verändern, daß eine Erkennung durch die Benzidinprobe nicht mehr möglich ist. Dem vermag ich nicht beizupflichten; Blut, das 9 Wochen solchen Verhältnissen ausgesetzt wurde, fand ich dennoch in allen Fällen einwandfrei nachweisbar. Bei den Salzen sind die Ergebnisse schon weniger konstant, sehr oft zeigt sich ein negativer oder unklarer Ausfall trotz vorhandenem Blut, wobei Trübungen und Niederschläge das Bild noch mehr verschleiern können. Einige dieser Substanzen rufen sogar ohne Blutgehalt eine Farbenreaktion hervor, die der bei Anwesenheit von Blut nahekommt. Besonders trifft dies für das Kaliumpermanganat zu, weiter für Kupfersufat, Kupferazetat, rotes Blutlaugensalz, Jodjodkali. Auch treten diese Täuschungsreaktionen nicht gleichmäßig bei allen Modifikationen der Probe auf, ohne daß man sagen könnte, daß eine von ihnen zuverlässigere Ergebnisse zeitigte als die anderen. Anwendung auf Säuren und Laugen ergab negativen Ausfall, mit Ausnahme der Kalilauge, die einige abweichende Resultate aufwies. Wurden sie dem Blut zugesetzt, so zeigte sich, daß 1%ige Salzsäure und Salpetersäure im Reagenzglas den Nachweis verhinderten; bei Natron- und Kalilauge gelang er nur teilweise.

Hingegen gestattete die Verwendung von Filtrierpapier mit fast allen Modifikationen Blut festzustellen, das mehrere Stunden lang mit Salzsäure verschieden starker Konzentrationen zusammengebracht worden war. Bedingung ist, daß man den Bodensatz des Blut-Salzsäuregemisches prüft, da die überstehende Flüssigkeit infolge Fällung des Blutfarbstoffes nach einiger Zeit keine Blutbestandteile mehr zu enthalten pflegt.

Die Prüfung der organischen Substanzen fiel bei den wichtigsten Sekreten und Exkreten des Menschen, die nach manchen Autoren positive Benzidinreaktion geben, fast durchweg negativ aus, nur beim Kolostrum trat in 4 Modifikationen die Farbenreaktion auf. Die beim Eiter beobachteten positiven Reaktionen sind wohl den durchweg vorhandenen Blutbeimengungen zuzuschreiben. Merkels Wahrnehmung, daß Tannin die Reaktion verhindert, bestätigte sich; das gleiche scheint für die Karbolsäure zuzutreffen, während Carbo animalis und Dextrin ohne Blut negative, mit Blut positive Ergebnisse erkennen lassen.

Nachdem schon Schumm und Westphal festgestellt hatten, daß rohe Kartoffeln die Benzidinprobe positiv machen, dehnte Mc Weeney diese Beobachtung auf die meisten frischen Obst- und Gemüsesorten aus, und hält für die Urheber in diesen enthaltene Oxydasen. Die Stärke, in der die Reaktion auftritt, ist sehr verschieden, angefangen von winzigen blauen Pünktchen im Fruchtfleisch bis zu intensiver Bläuung der ganzen Frucht, wie sie bei der rohen Kartoffel in Erscheinung zu treten pflegt. Es erwies sich jedoch, daß man durch Kochen diese Oxydasen zu zerstören vermag. Somit besteht also die Möglichkeit, diese Fehlerquelle auszuscheiden, indem man jedesmal die verdächtige Spur löst und aufkocht und erst dann die Blutprobe anstellt, wie es auch Mc Weeney rät. Das Bedenken, das man geltend machen könnte, daß nämlich durch das Erhitzen auch das etwa vorhandene Blut in seiner Reaktionsfähigkeit für die Vorprobe ungünstig beeinflußt wird, trifft nicht zu. Tabelle I d) beweist, daß Blut sowohl gekocht als trocken 1 Stunde auf 160° C erhitzt noch zu äußerst rascher Farbenreaktion führte. Diese trat aber nicht mehr ein, wenn die Erhitzung zur vollständigen Verkohlung geführt hatte. Der Nachteil der Vorbehandlung durch Kochen liegt demnach nur darin, daß sie auf Kosten der Einfachheit geht.

Das in Tabelle IIIa) aufgeführte Material war mit Blutspritzern versehen und 8 Wochen lang völlig ungeschützt den Einflüssen der Witterung preisgegeben worden. Trotzdem ließen sich in allen Fällen mit jeder der Modifikationen die Blutspuren einwandfrei nachweisen, obwohl der äußere Augenschein an den markierten Stellen oft nichts von der Anwesenheit von Blut vermuten ließ. Das gleiche stellte sich bei den Substanzen der Tabelle III b) heraus, die zwar vor Regen

geschützt waren, aber Temperaturveränderungen und Sonnenbestrahlung unterlagen. Nur fiel hier auf, daß sie zum großen Teil, ohne mit Blut in Berührung gekommen zu sein, positiv reagierten. Das trifft besonders für einige Stoffarten sowie Pappe zu. Schließlich untersuchte ich noch Insektenexkremente, von denen Merkel schreibt, daß sie selbst dann, wenn sie vollkommen blutfrei sind, einen positiven Ausfall geben, erhielt diesen aber außer mit IV bei keiner Benzidinprobe. 13 Jahre im Dunkeln aufbewahrte, auf Glas angetrocknete Blutstropfen ließen sich nur mit I nicht nachweisen.

Wägt man die Eigenschaften der einzelnen Modifikationen gegeneinander ab und sucht nach ihren etwaigen Vorzügen, so zeigt sich folgendes:

Hinsichtlich der Empfindlichkeit gegenüber Blutlösungen bewirken Konzentrationen bis 1 : 10 000 Blaufärbung bei VI, bis 1 : 50 000 tritt bei I und IV blaue beziehungsweise blaugrüne Verfärbung ein; in gleicher Weise reagieren III und V bei Verdünnungen bis 1 : 100 000. II gestattet den Nachweis noch bei 1 : 2 000 000 durch Auftreten eines tiefblauen Grenzringes zwischen bluthaltiger Flüssigkeit und dem vorsichtig überschichteten Reagens. Die anfangs bestechende Feinheit dieser Modifikation verliert aber dadurch an Wert, daß die ohnehin zahlreichen Fehlerquellen sich in verstärktem Maße auswirken. Nicht völlig einwandfrei saubere, ja selbst fabrikneue Reagensgläser führen bereits zu einer positiven Reaktion.

Abgesehen von der Schwarz'schen Benzidin-Chinolinprobe, deren Besonderheit auf dem Ueberschichten der Blutlösung mit dem alkoholischen Reagens beruht, sind die Modifikationen der Benzidinprobe bequemer mit Fließpapier als im Reagensglas durchführbar. Man gibt zu dem Blutpartikelchen oder einem Tropfen verdächtiger Lösung einen Tropfen Reagens. Positiver Ausfall tritt in Form blauer bis blaugrüner Fahnen zutage, die von den bluthaltigen Teilchen ausgehen. Die Empfindlichkeit leidet unter dieser Methode kaum. Dagegen ist das so ermöglichte Arbeiten mit der Substanz des untersuchten Objektes für kleinste Spuren bedeutungsvoll, da sich das Material noch weiter für Nachweise anderer Art verwenden läßt. Auf diese Weise umgeht man zugleich die Schwierigkeit der absolut sauberen Reagensgläser.

Es wurde schon erwähnt, daß man sehr häufig beim bloßen Auftropfen von Reagens auf das saubere Filtrierpapier nach wenigen Sekunden blaue Sprenkel auftauchen sieht oder im Verlaufe von Minuten eine diffuse Bläuung eintritt. Als sicher positiv sind daher nur solche Farbausfälle zu bewerten, die genügend kräftig sind und möglichst rasch eintreten. Eine Minute ist die längste Frist, die man gelten lassen kann, besser beschränkt man sich auf noch kürzere Zeit.

Eine Unannehmlichkeit der Benzidinreagentien ist ihre geringe Haltbarkeit. Vollwertig in ihrer Empfindlichkeit sind sie nur, wenn sie nicht älter als eine halbe Stunde sind, später verbietet sich ihre Anwendung überdies schon deshalb, weil sie mit Ausnahme von VI eine dunkle braunrote Eigenfarbe annehmen.

Aus allen diesen Untersuchungen geht hervor, daß zwar in jenen Fällen, die praktische Bedeutung haben, bei Vorhandensein von Blut ein positiver Ausfall der Benzidinprobe mit Wahrscheinlichkeit zu erwarten ist. Von einer Spezifität kann jedoch niemals die Rede sein, da die Zahl mehr oder weniger stark positiv reagierender Substanzen so groß ist, daß man häufig nicht mit ausreichender Sicherheit auf eine Blutbeimengung schließen kann.

Die Leukomalachitgrünvorprobe.

Wie eingangs erwähnt wurde, hatten sich schon O. und R. Adler mit dem Leukomalachitgrün und seiner Brauchbarkeit für den Blutnachweis befaßt. Sie schrieben vor, den Blutfleck mit dem Reagens zu durchtränken und mit einer 3%igen Wasserstoffsuperoxydlösung zu übergießen. Der Fleck wurde alsdann sofort intensiv grün. Aus dem Wesen der Reaktion, das ja vollkommen dem der Benzidinprobe gleicht, schlossen sie, daß die Fehlerquellen dieselben seien.

Ziemke bereitete das Reagens folgendermaßen: Aus der Leukobase des Malachitgrüns wurde eine konzentrierte Lösung in Eisessig hergestellt, der, falls sie nicht völlig farblos war, Chloroform zugefügt wurde. Nachdem bei Zusatz von Wasser das Chloroform unter Grünfärbung restlos ausgefallen war, wurde das Reagens von ihm abgetrennt. 10 Tropfen mit 30 Tropfen 3%igem Wasserstoffsuperoxyd versetzt ergeben das gebrauchsfertige Reagens, das sich mit Blut intensiv grün färbt. Michel stellte als „konzentrierte" Lösung ein Reagens von ähnlicher Zusammensetzung wie Medinger (s. u.) her und führte die Reaktion im Porzellanglühtiegel durch, indem er auf 1 Tropfen bluthaltiger Flüssigkeit 5 Tropfen des Reagens und 1—2 Tropfen 1%iges Wasserstoffsuperoxyd verwendete. Verdächtige Blutspuren löste er zu diesem Zwecke durch Erhitzen mit einigen Tropfen 90%iger Essigsäure. Verdunsten der Lösung vermeidet er durch Ueberdecken der Porzellanschale mit einem Uhrglas.

Die letzten Angaben, die ich auch meinen Versuchen zugrunde legte, stammen von Medinger. Die Anweisung für eine Stammlösung, die bei geeigneter, vor Sonnenlicht geschützter Aufbewahrung nahezu unbegrenzt haltbar ist, lautet:

Leukomalachitgrün	1 g
Eisessig	100 ccm
destill. Wasser	150 ccm

Setzt man dieser Lösung auf 8 ccm 2 ccm 1%iges oder 10 Tropfen 3%iges Wasserstoffsuperoxyd zu, so erhält man ein gebrauchsfertiges, bis zu 8 Tagen haltbares Reagens, das lediglich einem Stäubchen auf Filtrierpapier zugesetzt zu werden braucht, um durch die eintretende blaugrüne Färbung seinen Blutgehalt zu erweisen.

Mit diesem Reagens prüfte ich die gleichen anorganischen und organischen Substanzen wie bei der Benzidinprobe durch. Bei den ersteren fand sich, daß Kaliumpermanganat, Eisenchlorid, Eisenvitriol und rotes Blutsaugensalz zu einer Täuschungsreaktion Anlaß geben, davon Kal. permang. am ehesten, allerdings schon ohne Wasserstoffsuperoxyd. Das rote Blutlaugensalz hat nur durch den dunkleren Saum am Rande des hellgrünen, durch den Reagenstropfen entstandenen Flecks eine entfernte Aehnlichkeit mit der Blutreaktion. Alle übrigen Substanzen gaben entweder keine Farberscheinungen oder solche, die Verwechslungen nicht befürchten lassen. Medinger zählt noch einige Verbindungen wie Braunstein, Mennige und Bleisuperoxyd auf, die eine positive Reaktion, aber sämtlich bereits ohne Wasserstoffsuperoxyd hervorrufen. Wenn man diese Möglichkeiten in Rechnung zieht, gibt man das Reagens zunächst ohne Wasserstoffsuperoxyd zum Untersuchungsobjekt und fügt dieses erst dann hinzu, wenn der Ausfall negativ geblieben ist. War den untersuchten anorganischen Stoffen Blut beigemengt, so ließ sich das in allen Fällen erkennen. Alle in den Tabellen erwähnten organischen Substanzen fielen, soweit sie blutfrei waren, ausnahmslos negativ aus, andererseits ergab die Anwesenheit von Blut stets die typische dunkelblaugrüne Färbung, die von dem bluthaltigen Teilchen ausgeht und entsprechend der Menge des Blutfarbstoffes in ihrer Intensität schwankt. Nur Tannin vereitelte wie bei der Benzidinprobe die Reaktion, sonst versagte sie nur noch bei vollständig verkohltem Blut. Auch die bei der Benzidinprobe so störenden Fremdoxydasen von Obst und Gemüse blieben ohne jeden Einfluß.

In der angegebenen Zusammensetzung beschränkte sich die Empfindlichkeit des Leukomalachitgrüns auf Blutverdünnungen bis höchstens 1 : 5000. Es erschien daher ratsam, eine weitere Verschärfung anzustreben. Dazu erwies sich mir ein Zusatz von Chinolin als geeignet, mit dem bereits Schwarz eine Verbessung der Benzidinreaktion zu erreichen suchte. Entsprechende Versuche ergaben als bestes quantitatives Verhältnis 1 Tropfen Chinolin auf 1 ccm Leukomalachitreagens. Blutkonzentrationen von 1 : 20 000 sind so noch deutlich nachweisbar.

So wie es Medinger angibt, sieht das Reagens leicht grünlich aus. Entsprechend den Angaben Ziemkes (s. o.) kann man diese Färbung durch Ausschütteln mit Chloroform beseitigen, gewinnt aber dadurch keinen wesentlichen Vorteil.

Die unangenehme, bei der Benzidinprobe oft zu beobachtende Spontanfärbung des Filtrierpapiers tritt beim Leukomalachitgrün — wenn überhaupt — erst nach geraumer Zeit auf und ist dann so minimal, daß sie keinen Grund zu Mißdeutungen gibt, zumal eine positive Reaktion innerhalb längstens 15—20 Sekunden in Erscheinung zu treten pflegt.

Zusammenfassung:

1. Ein Vergleich der beiden Vorproben mittels Benzidin und Leukomalachitgrün führt nach dem Gesagten zu dem Ergebnis, daß die letztere unbedingt vorzuziehen ist. Die Benzidinprobe ist so unzuverlässig und mit einer so großen Anzahl von Fehlerquellen behaftet, daß sie besser zugunsten der Leukomalachitprobe fallengelassen wird.

2. Alle bisherigen Erfahrungen sprechen dafür, daß die Leukomalachitprobe als praktisch spezifisch für Blut anzusehen ist, besonders wenn man als Vorsichtsmaßregel gegenüber den wenigen Täuschungsreaktionen das Wasserstoffsuperoxyd erst zusetzt, wenn sich zwichen wasserstoffsuperoxydfreiem Reagens und verdächtiger Spur keine Farbenreaktion ergeben hat.

3. Eine Verfeinerung stellt der Zusatz von 1 Tropfen Chinolin auf 1 ccm Reagens dar.

4. Ein praktisch wichtiger Vorzug besteht in der Haltbarkeit des fertigen Leukomalachitreagens.

Tab. I. Anorganische Substanzen*).

a) Metalle.

		I	II	III	IV	V	VI
Eisen	o. Bl.	+	—	+	?	—	—
	m. Bl.	++	++	+++	+++	++	++
Kupfer	o. Bl.	+	?	—	+	+	—
	m. Bl.	+	++	+++	+++	+++	++
Blei	o. Bl.	?	—	?	—	+	—
	m. Bl.	++	+++	+++	++	++	++
Zink	o. Bl.	?	++	?	—	—	—
	m. Bl.	++	++	+	+	++	+++

b) Oxyde.

Eisenrost	o. Bl.	—	++	—	—	—	—
	m. Bl.	+	+++	+++	+++	+++	++
Kupferoxyd	o. Bl.	—	+	?	?	—	—
	m. Bl.	+	++	+++	++	++	++
altes Messing	o. Bl.	++	++	—	+	?	—
	m. Bl.	++	+	+++	+++	+++	+++

c) Salze.

(+ = ähnlich oder positiv, ? = fraglich, — = negativ).

gelbes Blutlaugensalz	o. Bl.	?	—	—	—	—	—
	m. Bl.	?	—	?	—	—	—
rote Blutlaugensalz	o. Bl.	+	+	?	+	+	+
	m. Bl.	+	+	?	+	+	+
Cupr. acet.	o. Bl.	?	+	+	+	+	+
	m. Bl.	?	+	+	+	+	+
Cupr. sulf.	o. Bl.	?	—	?	?	?	?
	m. Bl.	+	—	?	?	?	—
Calciumcarbonat	o. Bl.	—	++	—	?	?	?
	m. Bl.	?	—	+	?	+	+

*) Zeichenerklärung:

+++ sofort positiv
+ später positiv
? fraglich
++ innerhalb 10 Sek. pos.
— negativ
m. Bl. mit Blut
o. Bl. ohne Blut

		I	II	III	IV	V	VI
Eisenchlorid	o. Bl.	?	?	?	—	—	—
	m. Bl.	?	+	—	—	—	—
Eisenvitriol	o. Bl.	—	—	—	—	—	—
	m. Bl.	?	—	—	—	+	—
Jodjodkali	o. Bl.	+	—	+	?	—	—
	m. Bl.	+	+	+	?	+	—
Jodkali	o. Bl.	—	+	—	—	—	—
	m. Bl.	?	+	+	?	+	?
Kaliumpermanganat	o. Bl.	+	+	+	+	+	+
	m. Bl.	+	+	+	+	+	+
Kochsalzlösung	o. Bl.	?	?	—	—	—	—
	m. Bl.	+	?	+	?	+	?
Magnesiumsulfat	o. Bl.	—	—	—	—	—	—
	m. Bl.	?	—	—	—	+	—
Platinchlorid	o. Bl.	?	—	—	—	?	—
	m. Bl.	+	+	?	—	?	?
Rhodankalium	o. Bl.	?	+	?	—	—	—
	m. Bl.	?	+	?	—	-	—
Sublimat	o. Bl.	?	—	—	—	+	—
	m. Bl.	?	—	—	—	+	?
Ammoniumchlorid	o. Bl.	?	?	—	?	?	?
	m. Bl.	?	+	?	+	+	?

d) Säuren und Laugen).*

Salzsäure 10%	m. Bl.	?	+++	+++	+++	—	+
	o. Bl.	—	?	—	—	—	—
Salzsäure 25%	m. Bl.	—	+++	++	++	++	++
Salzsäure 37%	m. Bl.	—	+++	++	++	++	++
Salpetersäure 2%	m. Bl.	—	—	—	—	—	—
	o. Bl.	—	—	—	—	—	—
Natronlauge 10%	m. Bl.	—	—	—	—	—	—
	o. Bl.	—	—	+++	+++	+++	++
Kalilauge	m. Bl.	—	—	+	?	—	++
	o. Bl.	—	—	—	—	—	—

*) Zeichenerklärung s. S. 16.

Tab. II. Organische Substanzen*).

a) Sekrete und Exkrete.

	I	II	III	IV	V	VI
Schweiß	—	—	—	—	—	—
Speichel	?	—	—	—	?	—
Harn	—	—	—	—	—	—
Sperma	—	?	?	—	—	—
Kolostrum	—	+	+	+	+	—
Muttermilch	—	?	—	—	—	—
ungekochte Kuhmilch	—	—	—	?	—	—
gekochte Kuhmilch	—	?	—	—	—	—
Sekret der Nasenschleimhaut	—	—	—	?	—	—

b) Pflanzenwelt.

Bohnen	—	+++	++	++	++	—
Rüben	+	—	+	++	?	—
Winterkohl	?	++	—	—	—	—
Kartoffel, roh	+++	+++	+++	+	+	+
Kartoffel, gekocht	—	—	—	—	—	—
trockenes Laub	—	?	—	?	—	—
Brot	—	?	—	—	?	—

c) Verschiedenes.

Carbo animalis puriss.	o. Bl.	—	—	?	—	—	—
	m. Bl.	+++	+++	-++	+++	+++	++
Insektenxekremente		—	—	—	++	?	—
Dextrin	o. Bl.	—	—	—	—	—	—
	m. Bl.	+	+	+	+	+	+
Formol	o. Bl.	—	—	—	—	—	—
	m. Bl.	?	+	?	+	?	+
Karbolsäure	o. Bl.	—	—	—	—	—	—
	m. Bl.	—	—	?	—	—	—
Tannin	o. Bl.	—	—	—	—	—	—
	m. Bl.	—	—	—	—	?	—

*) Zeichenerklärung s. S. 16.

Tab. III. Witterungseinflüsse*).

a) 8 Wochen der Witterung ausgesetztes Blut auf verschiedenen Unterlagen.

		I	II	III	IV	V	VI
Gartenerde	o. Bl.	—	—	?	—	—	—
	m. Bl.	++	+++	?	++	+++	+++
Hausverputz	o. Bl.	—	—	—	—	?	—
(Mörtel)	m. Bl.	?	++	+++	++	+++	+++
Baumrinde		++	+++	+++	++	+++	++
Lederschuh		++	+++	+++	+++	++	++
Holzbank		+++	+++	+++	+++	+++	+++

b) Vor Regen geschütztes, 8 Wochen der Sonne und Temperaturschwankungen ausgesetztes Blut.

Holz	o. Bl.	—	?	?	—	—	—
	m. Bl.	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Leder	o. Bl.	—	+	—	—	+++	—
	m. Bl.	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Filz	o. Bl.	?	?	?	—	+++	?
	m. Bl.	+	+++	+++	+++	+++	++
Kokosmatte	o. Bl.	?	?	?	?	?	?
	m. Bl.	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Kattun	o. Bl.	—	++	+	++	?	?
	m. Bl.	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Pappe	o. Bl.	+	+++	++	+	+	+
	m. Bl.	+++	+++	+++	++	+++	+++
Baumwollstoff	o. Bl.	+	++	++	++	?	—
	m. Bl.	+++	+++	+++	+++	+++	++
Vorhangquaste	o. Bl.	+	++	?	—	?	+
	m. Bl.	+++	+++	+++	+++	+++	++
Flanell	o. Bl.	+	++	++	++	++	?
	m. Bl.	++	+++	+++	+++	+++	+++
grobes Leinen	o. Bl.	+	+	?	+	?	—
	m. Bl.	++	+++	+++	+++	+++	+++
Kork	o. Bl.	+	++	+	++	—	?
	m. Bl.	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Kalkstein	o. Bl.	—	++	—	++	—	—
	m. Bl.	++	++	++	+++	+++	+++

*) Zeichenerklärung s. S. 16.

Tab. IV. Temperatureinflüsse*).

	I	II	III	IV	V	VI
Blut gekocht	+++	+++	+++	+++	+++	++
Blut 1 Std. auf 160° C erhitzt	++	+++	+++	+++	+++	++
Blut verkohlt	—	—	—	—	—	—

Tab. V. Verschiedenes.

Blut auf Glasplatte 8 Wochen alt	++	++	+++	+++	+++	+++
do. 13 Jahre alt	—	+	+++	++	++	++

*) Zeichenerklärung s. S. 16.

Schrifttum.

Adler, Oskar u. Rudolf: Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 41 (1904).

Ascarelli, Attilio: Deutsche med. Wochenschr. 1908, Nr. 53.

Burger, George N.: Deutsche Zeitschr. f. d. ges. ger. Medizin, Bd. 23 (1934).

Carnwath: Arb. aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt, 1908, Bd. 27.

Einhorn, Max: Deutsche med. Wochenschr., 1907, Nr. 27.

Ellermann Vierteljahresschr. f. ger. Med., 1911 (Bd. 42).

Hofmann-Haberda: Lehrb. der ger. Med. 1927.

Leers: Die forensische Blutuntersuchung, 1910.

Lochte, Th.: Gerichtsärztliche und polizeiärztliche Technik, Wiesbaden 1914.

Lochte u. Fiedler: Ärztl. Sachverständigen-Zeitung, 1913.

Medinger, P.: Deutsche Zeitschr. f. d. ges. ger. Med., Bd. 20 (1933).

Merkel, Herm.: Münch med. Wochenschr., 1909, Nr. 46.

— Festschr. Zangger, Tl. 1, 121—127 (1935).

— Deutsche Ztschr. f. d. ges. ger. Med., Bd. 26 (1936).

Messerschmidt: Münch. med. Wochenschr. 1909, S. 388.

Podlinski: Zeitschr. f. Medizinalbeamte, 1906, Nr. 16.

Schlesinger u. Holst: Deutsche med. Wochenschr. 1906, Nr. 36.

Schumm, O.: Deutsche med. Wochenschr. 1907, Nr. 42.

Schumm u. Westphal: Zeitschr. f. physiol. Chemie 46 ((1905).

Siegel, M.: Münch. med. Wochenschr. 1905, Nr. 33.

Straßmann: Deutsche med. Wochenschr. 1909, Nr. 3.

Walter, E.: Deutsche med. Wochenschr. 1909, Nr. 3, Vereinsbeilage.

— Deutsche med. Wochenschr. 1910, Nr. 7.

Weeney, Mc.: Proc. Dubl. Soc. 12 (1909) S. 216—224.

Ziemke in Abderhaldens Handbuch der biol. Arbeitsmethoden, Abt. IV, Teil 12, Heft 2.

Lebenslauf.

Ich, Heinz Horst Harttmann, wurde als Sohn des Kaufmanns Kurt Harttmann und seiner Ehefrau Frieda geb. Kirchhübel am 30. April 1914 in Chemnitz geboren. Nach Besuch der Volksschule trat ich Ostern 1924 in das dortige Reformrealgymnasium ein, an dem ich auch Ostern 1933 die Reifeprüfung ablegte. Das Studium der Medizin nahm ich nach Ableistung des freiwilligen Arbeitsdienstes im Sommersemester 1934 in Leipzig auf, wo ich im Juni 1936 das Physikum machte. Das klinische Studium führte mich je 1 Semester nach München, Hamburg und Freiburg. Seit S. S. 1938 besuche ich die Universität Würzburg und bestand daselbst im September 1939 die medizinische Staatsprüfung.

Am Schlusse meiner Arbeit möchte ich nicht versäumen, Herrn Prof. Dr. W a l c h e r für die freundliche Ueberlassung des Themas meinen verbindlichsten Dank zu sagen.

Ich versichere hiermit ehrenwörtlich, daß ich die vorliegende Arbeit selbständig verfaßt und außer dem angegebenen Schrifttum keinerlei weitere Hilfsmittel dazu benützt habe.

Heinz Harttmann.